



TITLE:

アシルグアニジン構造を含有する  
新規シデロフォア  
chlorocatechelin類に関する研究(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

岸本, 真治

---

CITATION:

岸本, 真治. アシルグアニジン構造を含有する新規シデロフォア  
chlorocatechelin類に関する研究. 京都大学, 2015, 博士(薬科学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18926>

RIGHT:

許諾条件により本文は2016/03/22に公開; 許諾条件により要旨は  
2015/06/22に公開

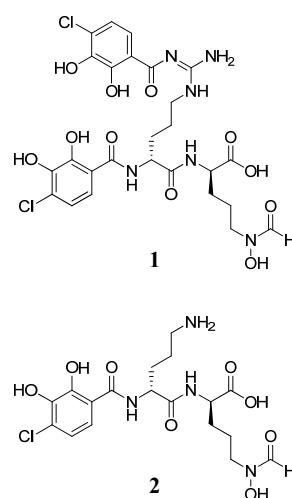
|      |  |    |       |
|------|--|----|-------|
| 京都大学 | 博士 (薬科学)                                       | 氏名 | 岸本 真治 |
| 論文題目 | アシルグアニジン構造を含有する新規シデロフォアchlorocatechelin類に関する研究 |    |       |

## (論文内容の要旨)

鉄は生物にとって必須な元素である。微生物は鉄の欠乏した環境にさらされると、Fe(III)との親和性が高い低分子化合物シデロフォアを分泌して錯体を形成させ、必要な鉄を得ている。シデロフォアには様々な微生物の生育に影響を与えるものや、鉄の関与する病気の治療に使用できるものもあるため、新たなシデロフォアの発見は微生物資源の開拓やヒトの健康維持に貢献することが期待される。

## 第一章 Chlorocatechelin AおよびBの単離・構造決定

Chrome Azurol S (CAS) アッセイを用いて約1100株の微生物抽出液ライブラリーのスクリーニングを行い、強い鉄キレート活性を示す*Streptomyces*属放線菌ML93-86F2株を見出した。この放線菌株を大量培養後、各種クロマトグラフィーを用いて精製し、新規シデロフォアchlorocatechelin A (**1**, 75.6 mg) およびB (**2**, 12.4 mg) を単離することに成功した。続く詳細なスペクトル解析および分解実験によってこれら化合物の全構造を決定し、chlorocatechelin類が天然物での報告例のない4-chloro-2,3-dihydroxybenzoic acid (CDB) を分子中に有していること、さらに**1**に関しては天然物での報告例が稀なアシルグアニジン構造を有していることを明らかにした。



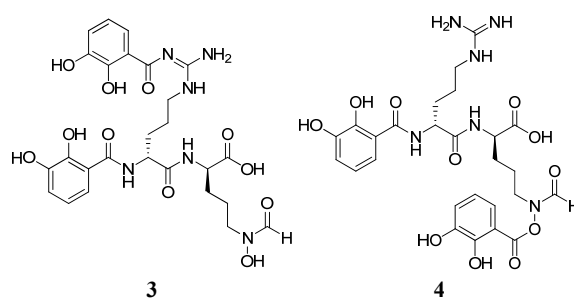
## 第二章 Chlorocatechelin Aの全合成とchlorocatechelin Bの生成機構

アシルグアニジン構造を有するシデロフォアは他にheterobactin類が報告されているのみであり、全合成の報告例がない。そこでこの特異な構造の演繹的な証明と生物学的研究に必要な化合物の安定供給を目的として**1**の全合成を行った。*o*-vanillinを出発原料として保護されたCDBを合成し、Schotten-Baumann条件でD-arginineと反応させることでアシルグアニジンを含む左セグメントを合成した。一方で1-benzyl D-glutamateからornithine誘導体である右セグメントを合成し、これを左セグメントと縮合後、脱保護を行うことで目的化合物**1**を得ることに成功した。さらに、**1**を得る過程で微量の**2**を検出したことから着想して、様々なpH条件下で**1**の安定性を試験し、**2**が**1**のアシルグアニジンの分解により生成することを明らかにした。

## 第三章 Mirubactinの全合成と構造訂正

**1**および**2**の分子内に初めて見出されたCDBは、多くのシデロフォア中に見られる2,3-dihydroxybenzoic acid (DHB) の4位がクロロ基で置換された構造を有する。このクロロ基の存在が化合物の性質に与えている影響を調べるために**1**の脱クロロ体**3**の

合成を行った。市販のDHBをCDBの代わりに用いて**1**と同様に合成し、目的化合物**3**を得た。そのスペクトルデータを詳細に解析すると、2012年に構造**4**で報告されていたmirubactinのものと一致したことから、mirubactinの真の構造が**1**の脱クロロ体**3**であると結論付けた。



#### 第四章 Chlorocatechelin類の鉄結合能と生物活性評価

サイクリックボルタンメトリーを用いて**1-3**およびdesferrioxamine B (DFB) の錯体中のFe(III)の還元電位を測定した。得られた還元電位から各化合物とFe(III)との親和性を評価すると、**1**と**3**のFe(III)親和性は同程度でありDFBよりも高かったが、**2**はDFBよりも低かった。この結果から、DHBのクロロ化はFe(III)との親和性に大きな影響を与えないが、**1**や**3**の持つアシルグアニジン構造がFe(III)との結合に重要であることが明らかとなった。

続いて、**1**と**2**がほかの微生物に与える影響について調べると、同じくシデロフォアであるDFBにより生育が阻害される微生物株に対して生育阻害効果を示した。また、鉄制限培地で試験を行うと大腸菌や黄色ブドウ球菌に対しても生育阻害効果が観察された。鉄結合能の高い**1**の方が**2**よりも低い濃度で生育を阻害したことから、これらシデロフォアが鉄を枯渇させて生育阻害を示していることが示唆された。

今回発見したchlorocatechelin Aに含まれているアシルグアニジン構造は特定の条件下で分解し、親和性の低いシデロフォアchlorocatechelin Bを生み出す要因となっていた。易分解性化合物の産生はエネルギー効率が悪いので、この構造は生産者に何らかの利益をもたらしていると考えられる。これを解明することで微生物によるシデロフォアの新たな利用法が明らかになることが期待される。

アシルグアニジン周辺部のNMR情報は総じて不足するため、アシルグアニジンを含む化合物の構造決定は困難である。実際に、本論文で結論付けたmirubactinの構造訂正以外にも、前述のheterobactinもまた構造が訂正されている。Chlorocatechelin Aの構造決定に用いた方法および全合成法がアシルグアニジン構造を有する化合物群の正確な構造決定に貢献し、これら化合物の研究が促進されることが期待される。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

著者は、微生物学、医学、分子生物学的に有用な新規シデロフォアを見出すべくCASアッセイを利用した探索を行い、*Streptomyces*属放線菌ML93-86F2株抽出液から新規シデロフォアchlorocatechelin A (1) およびB (2) を発見することに成功した。1は単純なNMR測定のみでは決定できない平面構造を有していたが、MS/MS測定や重水素交換試験を駆使することによってその構造を決定した。すなわち、その構造中には天然物での報告例のない4-chloro- 2,3-dihydroxybenzoic acid (CDB) が二つ含まれており、さらにそのうちの 하나가Argのguanidino基と結合して天然物では稀なアシルグアニジン構造を形成していることを明らかにした。一方、2は1のアシルグアニジン構造が欠如した構造となっており、各種条件検討の結果、少なくとも、酸性条件下で1が分解することで2が生じることを明らかにした。

続いて著者は、天然から得られるchlorocatechelin A (1) には分離困難な不純物やFe(III) 錯体が微量に含まれており、その生物活性を厳密に議論するにはより純度の高い試料が必要であると考え、1の全合成研究に着手し、最長15工程にて1を合成することに成功した。この合成には非常にシンプルで操作が簡便な方法を選択しており、構造決定が困難なアシルグアニジン含有シデロフォアの構造確認に利用可能と考えられる。さらに、本研究において著者は、同様の合成方法で1の脱塩素体を合成し、シデロフォアとしては不自然な構造で報告されていたmirubactinの真の構造を明らかにすることに成功した。

さらに著者は、mirubactinおよびchlorocatechelin類についてその性質の理解のためにサイクリックボルタンメトリーを用いた各Fe(III) 錯体の還元電位の測定を行い、chlorocatechelin A (1)、mirubactin、chlorocatechelin B (2) の順にFe(III) 錯体の還元電位が低い、すなわちこの順にFe(III) との親和性が高いことを明らかにした。一方、1および2がほかの微生物に与える影響について調べた結果、同じくシデロフォアであるdesferrioxamine B(DFB)により生育が阻害される微生物株に対して生育阻害効果を示した。また、鉄制限培地で試験を行うと大腸菌や黄色ブドウ球菌に対しても生育阻害効果があることを明らかにした。鉄結合能の高い1の方が2よりも低い濃度で生育を阻害したことから、これらシデロフォアが鉄を枯渇させて生育阻害を示していることが示唆された。

以上のように、著者は、アシルグアニジン構造を含有する新規シデロフォアchlorocatechelin類に関する研究を実施し、新規シデロフォアchlorocatechelins A(1)およびB(2)の発見、全合成、生物学的評価、さらには、mirubactinの構造訂正に成功した。これらの研究は、今後のシデロフォア研究に関して化学的にも生物学的にも有益な知見を与えるものと判断される。

よって、本論文は博士（薬科学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年2月27日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：2015 年 6 月 22 日以降